

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Soja
Ministério da Agricultura e Pecuária*

Eventos Técnicos & Científicos

3

Junho, 2024

RESUMOS EXPANDIDOS

39^a Reunião de Pesquisa de Soja

**26 e 27 de junho de 2024
Londrina, PR**

*Embrapa Soja
Londrina, PR
2024*

Embrapa Soja

Rodovia Carlos João Strass, acesso Orlando Amaral, Distrito de Warta
Caixa Postal 231, CEP 86001-970, Londrina, PR
Fone: (43) 3371 6000
Fax: (43) 3371 6100
www.embrapa.br/soja
https://www.embrapa.br/fale-conosco/sac/

Comitê de Publicações da Embrapa Soja

Presidente: *Adeney de Freitas Bueno*

Secretário-executivo: *Regina Maria Villas Bôas de Campos Leite*

Membros: *Claudine Dinali Santos Seixas, Clara Beatriz Hoffmann-Campo, Fernando Augusto Henning, Ivani de Oliveira Negrão Lopes, Leandro Eugênio Cardamone Diniz, Maria Cristina Neves de Oliveira, Mônica Juliani Zavaglia Pereira e Norman Neumaier*

Edição executiva: *Vanessa Fuzinatto Dall'Agnol*

Normalização: *Valéria de Fátima Cardoso*

Diagramação: *Marisa Yuri Horikawa*

Organização da publicação: *Regina Maria Villas Bôas de Campos Leite, Claudine Dinali Santos Seixas*

1ª edição

Publicação digital: PDF

As opiniões emitidas nesta publicação são de exclusiva e de inteira responsabilidade dos autores, não exprimindo, necessariamente, o ponto de vista da Embrapa.

É de responsabilidade dos autores a declaração afirmando que seu trabalho encontra-se em conformidade com as exigências da Lei nº 13.123/2015, que trata do acesso ao Patrimônio Genético e ao Conhecimento Tradicional Associado.

Todos os direitos reservados

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Soja

Reunião de Pesquisa de Soja (39. : 2024 : Londrina, PR).

Resumos expandidos 39ª Reunião de Pesquisa de Soja, Londrina, PR, 26 e 27 de junho de 2024

-- Londrina : Embrapa Soja, 2024.

PDF (195 p.) -- (Eventos técnicos & científicos / Embrapa Soja, ISSN 0000-0000 ; 3).

1. Soja. 2. Pesquisa agrícola. I. Título. II. Série.

CDD (21. ed.) 633.34072

IDENTIFICAÇÃO DE *Diaporthe ueckeri* NA COLEÇÃO DE MICRORGANISMOS DE INTERESSE PARA A AGRICULTURA DA EMBRAPA SOJA

GODOY, C. V.⁽¹⁾; MEYER, M. C.⁽¹⁾; MARCELINO-GUIMARAES, F. C.⁽¹⁾; COSTAMILAN, L. M.⁽²⁾; SOARES, R. M.⁽¹⁾; SEIXAS, C. D. S.⁽¹⁾

⁽¹⁾Embrapa Soja, Londrina, PR ; ⁽²⁾Embrapa Trigo.

Introdução

Espécies do gênero *Diaporthe* (anamorfo *Phomopsis*) podem ser endofíticas e patogênicas em uma ampla gama de hospedeiros, e responsáveis por diversas doenças, algumas de importância econômica.

Na cultura da soja, as espécies de *Diaporthe* podem causar o cancro da haste, a podridão de vagens e grãos e a seca das hastes e das vagens. O cancro da haste é a doença de maior importância econômica, sendo causado principalmente por duas espécies: *D. aspalathi*, relatado pela primeira vez no Brasil em 1989 (Yorinori et al., 1989), e *D. caulivora* (Costamilan et al., 2008), favorecido por temperaturas mais baixas quando comparado a *D. aspalathi*, mas podendo se sobrepor geograficamente. No Brasil, a maioria dos programas de melhoramento seleciona cultivares com resistência a *D. aspalathi*.

Diaporthe longicolla era descrito como o principal agente causal da podridão de grãos, podendo causar também a podridão das vagens, juntamente com *D. sojae*, e sintomas de seca das hastes na soja. Embora as diferentes espécies estejam associadas às doenças mencionadas, todas podem ser isoladas de grãos e tecidos de outros órgãos da planta, com ou sem sintomas aparentes (Udayanga et al., 2015; Petrovic et al., 2021).

A diferenciação das espécies de *Diaporthe* era feita com base em morfologia e em sintomas da doença no hospedeiro. No entanto, devido à variabilidade inter e intraespecífica, características morfológicas nem sempre são suficientes. Análises filogenéticas a partir de regiões do genoma das diferentes espécies do complexo têm permitido maior precisão na identificação. Recentemente, outras espécies têm sido associadas aos sintomas das doenças de soja causadas pelo complexo *Diaporthe*, entre elas *D. ueckeri* (Petrovic et al., 2021).

A Embrapa Soja possui uma coleção de microrganismos obtidos de amostras de plantas com diferentes sintomas, mantidos na Coleção de Microrganismos de Interesse para a Agricultura da Embrapa Soja (CMES), muitos dos quais identificados inicialmente com base em características da colônia, morfologia e sintomas nas plantas.

O objetivo deste trabalho foi realizar a análise molecular de isolados do complexo de *Diaporthe* depositados na CMES, coletados a partir de diferentes partes de plantas de soja e de algodão, em diferentes anos e locais do Brasil, para verificar a presença de *D. ueckeri*.

Material e Métodos

Oitenta isolados da CMES, coletadas entre os anos de 1989 e 2023, foram enviados ao laboratório Agrônomo (Laboratório de Diagnóstico Fitossanitário Ltda.) para separação de quatro espécies de *Diaporthe*, por amplificação por qPCR da região do fator de alongação (EF) das espécies *D. aspalathi*, *D. caulivora* e *D. ueckeri*, utilizando os iniciadores desenvolvidos pelo próprio laboratório. Para a espécie *D. longicolla*, foram utilizados os iniciadores PL-3F, PL-3R e PL-3P (Zhang et al., 1999).

Micélio proveniente de cada colônia foi macerado em N₂ líquido para extração de DNA total, utilizando o kit Wizard Genomic DNA Purification (Promega, Madison, EUA), de acordo com as

instruções do fabricante. A quantificação e a qualidade do DNA extraído foram verificadas em espectrofotômetro (Nanodrop ThermoScientific modelo 2000).

O mix da qPCR para as quatro espécies (12 µL) continha 2,0 µL de DNA genômico (50 ng µL⁻¹), 0,15 µL de cada iniciador (0,3 µM), 0,24 µL da sonda (0,1 µM), 3,46 µL de água ultrapura esterelizada e 6 µL do master mix Go Taq Probe (Promega). O programa de amplificação da PCR consistiu em 95 °C por 5 min, seguido por 40 ciclos de 95 °C por 15 s e 60 °C por 1 min. As amostras foram consideradas positivas quando o valor do Ct () foi ≤ 35 e os controles de contaminação, sem sinal de amplificação.

Resultados e Discussão

Entre os 80 isolados enviados, alguns apresentaram mais de uma espécie de *Diaporthe* na amostra sendo: 25 classificados como *D. aspalathi*, 61 *D. longicolla* e 31 *D. ueckeri*. Somente um isolado (CMES 659) não foi identificado como uma das quatro espécies. Nenhum dos isolados enviados foi classificado como *D. caulivora* (Tabela 1).

Dos 25 isolados de *D. aspalathi*, 23 foram obtidos entre os anos de 1989 e 2007, a partir de haste, raízes e grãos de soja (Tabela 1). Os isolados coletados após essa data foram do Mato Grosso (CMES 1805) e Goiás (CMES 2119). Sete das placas com *D. aspalathi* apresentaram também a espécie *D. longicolla*, e duas, *D. ueckeri* (CMES 458 e CMES 2119), sendo o mais antigo coletado em 2000 (CMES 458), em Ponta Grossa, PR, em raízes de soja.

Dos 31 isolados de *D. ueckeri*, 29 continham também a presença de *D. longicolla* na mesma amostra, incluindo o isolado de folhas de algodoeiro (CMES 2122). Os isolados foram obtidos de hastes, raízes, sementes e restos de culturas nos estados do Paraná (10), de São Paulo (2), do Pará (2), do Rio Grande do Sul (1), de Goiás (2), do Tocantins (1), de Minas Gerais (1) e de Mato Grosso (12).

Conclusão

Nas amostras depositadas na CMES foram encontrados isolados de *D. ueckeri*, pelo método de detecção empregado, oriundos de oito regiões produtoras no Brasil, a partir da década de 2000.

Referências

- COSTAMILAN, L. M.; YORINORI, J. T.; ALMEIDA, A. M. R.; SEIXAS, C. D. S.; BINNECK, E.; ARAÚJO, M. R.; CARBONARI, J. A. First report of *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora* infecting soybean plants in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, p. 381-385, 2008.
- PETROVIĆ, K.; SKALTSAS, D.; CASTLEBURY, L. A.; KONTZ, B.; ALLEN, T. W.; CHILVERS, M. I.; GREGORY, N.; KELLY, H. M.; KOEHLER, A. M.; KLECZEWSKI, N. M.; MUELLER, D. S.; PRICE, P.P. 3rd; SMITH, D. L.; MATHEW, F. M. *Diaporthe* seed decay of soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] is endemic in the United States, but new fungi are involved. **Plant Disease**, v. 105, p. 1621-1629, 2021.
- UDAYANGA, D.; CASTLEBURY, L. A.; ROSSMAN, A. Y.; CHUKEATIROTE, E.; HYDE, K. D. The *Diaporthe sojae* species complex: phylogenetic re-assessment of pathogens associated with soybean, cucurbits and other field crops. **Fungal Biology**, v. 119, p. 383-407, 2015.
- YORINORI, J. T.; ALMEIDA, A. M. R.; HOMECHIN, M.; MIRANDA, I. C.; KIIHI, R. A. S.; POIA, J. N. Epifítia do cancro da haste da soja nos municípios de Castro, Palmeira, Ponta Grossa e Tibagi, no Paraná e Rondonópolis, no Mato Grosso, na safra de 1988/89. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 5., 1989, Campo Grande. **Resumos ...** Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1989. p. 22-23
- ZHANG, A. W.; HARTMAN, G. L.; CURIO-PENNY, B.; PEDERSEN, W. L.; BECKER, K. B. Molecular detection of *Diaporthe phaseolorum* and *Phomopsis longicolla* from soybean seeds. **Phytopathology**, v. 89, p. 796-804, 1999.

Tabela 1. Dados de identificação de espécies de *Diaporthe* da coleção de microrganismos de Interesse para a Agricultura da Embrapa Soja (CMES). Da: *D. aspalathi*, DI: *D. longicolla* e Du: *D. ueckeri*.

Código	Da	DI	Du	Ano de coleta	UF
CMES 418	+			1997	GO
CMES 459		+		2001	GO
CMES 469	+	+		2001	GO
CMES 482	+			2001	GO
CMES 2119	+	+	+	2018	GO
CMES 2121		+	+	2018	GO
CMES 507	+			2007	MA
CMES 384	+			1992	MG
CMES 400	+			1993	MG
CMES 486	+	+		2003	MG
CMES 2738		+	+	2023	MG
CMES 392	+	+		1993	MS
CMES 411	+			1993	MS
CMES 668		+		2008	MS
CMES 417	+			1997	MT
CMES 1659		+		2016	MT
CMES 1805	+	+		2016	MT
CMES 1831		+	+	2017	MT
CMES 1833		+	+	2017	MT
CMES 1837		+		2017	MT
CMES 1841		+		2017	MT
CMES 1845		+		2017	MT
CMES 1855		+		2017	MT
CMES 1827		+	+	2017	MT
CMES 21221		+	+	2018	MT
CMES 2473		+	+	2022	MT
CMES 2344		+	+	2022	MT
CMES 2470		+	+	2022	MT
CMES 2474		+	+	2022	MT
CMES 2722		+	+	2022	MT
CMES 2728		+		2022	MT
CMES 2456			+	2022	MT
CMES 2732		+	+	2023	MT
CMES 896		+		-	MT
CMES 659				1994	MT
CMES 2682		+	+	2022	MT
CMES 1866		+	+	2017	PA
CMES 2120		+	+	2018	PA
CMES 520	+	+		1989	PR
CMES 380	+	+		1992	PR
CMES 386	+	+		1992	PR
CMES 390	+			1992	PR
CMES 393	+			1993	PR
CMES 412	+			1995	PR
CMES 415	+			1996	PR
CMES 458	+		+	2000	PR
CMES 465	+			2001	PR
CMES 478	+			2001	PR
CMES 484	+			2002	PR
CMES 490	+			2005	PR
CMES 645		+		2007	PR
CMES 1902		+		2007	PR
CMES 894		+	+	2010	PR
CMES 1155		+		2012	PR
CMES 1863		+		2017	PR
CMES 1923		+	+	2017	PR
CMES 2099		+		2018	PR
CMES 2106		+	+	2018	PR
CMES 2214		+	+	2018	PR
CMES 2230		+		2018	PR
CMES 2219		+	+	2019	PR
CMES 2689		+	+	2022	PR
CMES 2694		+	+	2023	PR
CMES 2699		+		2023	PR
CMES 912		+	+	-	PR
CMES 919		+		-	PR
CMES 1561		+	+	2014	PR
CMES 1432		+		2013	RR
CMES 898		+		-	RR
CMES 925		+		2000	RS
CMES 498	+			2006	RS
CMES 1870		+		2017	RS
CMES 2112		+		2018	RS
CMES 2115		+	+	2018	RS
CMES 910		+		-	RS
CMES 1641		+		2016	RS
CMES 1173		+	+	2013	SP
CMES 2216		+	+	2019	SP
CMES 2692		+		2023	SP
CMES 2243		+	+	2019	TO